

## ЛАЗЕРНАЯ АТОМНО-ЭМИССИОННАЯ СПЕКТРОМЕТРИЯ ЛОКАЛЬНОГО РАСПРЕДЕЛЕНИЯ БИОЭЛЕМЕНТОВ В ВЫСОХШЕЙ КАПЛЕ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ДИАГНОЗОМ РАК ШЕЙКИ МАТКИ

*Г.Т. Маслова, Т.А. Русско, А.Н.Веремчук, А.С. Мавричев,  
Ж.И. Булойчик, А.П. Зажогин*

*Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь  
E-mail: zajogin\_an@mail.ru*

Abstract. This work presents the development of the methods intended for quantitative estimation of the local spatial distribution of vitally important elements in dried drops of human blood with the use of multichannel local atomic-emission spectrometry. The results of these estimates may form the basis for diagnostics of different diseases.

Интерес исследователей к процессам, происходящим в высыхающих каплях жидкостей в последнее десятилетие значительно возрос [1-4]. В первую очередь такие работы ведутся с целью разработки новых и простых методов диагностики различных патологий человеческого организма, поскольку биологические жидкости (БЖ) являются важной диагностической субстанцией.

Явление дегидратационной самоорганизации БЖ было обнаружено Е.Г. Рапис около 20 лет назад [1]. Однако всестороннее исследование образующейся при этом фации (высушенная капля БЖ), имеющей структуру, специфика которой определяется всем комплексом количественных и качественных параметров присутствующих в ней веществ, активно продолжается, что позволило использовать внешний вид фации в диагностических целях [2, 3]. Морфологическая структура высохшей капли БЖ, представляющая собой комплекс сложных физико-химических и механических процессов, отражает состояние здоровья, что позволяет использовать этот феномен как дополнительный критерий в медицинской диагностике.

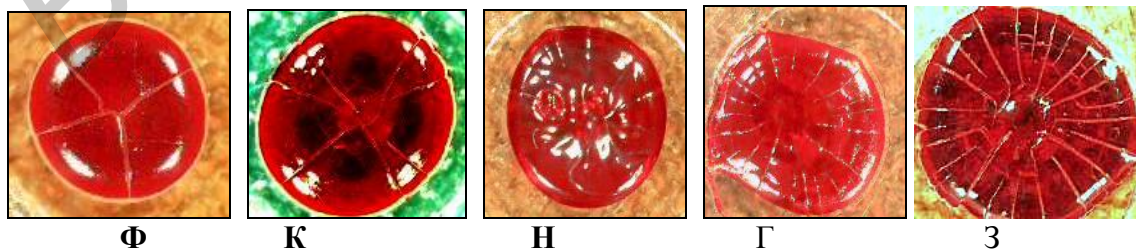
Целью настоящей работы является исследование морфоструктурной организации высыхающих на твердой поверхности капель крови онкологических больных и пространственного распределения в них одного из важнейших биоэлементов – кальция - для оценки возможности использования полученной информации в диагностических целях.

Для экспериментальной работы были использованы капли крови больных, находящиеся на стационарном лечении в РНПЦ онкологии и медицинской радиологии.

Каплю крови объемом 10 мкл наносили на твердую поверхность (органическое стекло) и высушивали. Для получения снимков использовали оптический микроскоп Webbers, совмещенный с цифровой камерой (отраженный свет), и микроскоп Биолам со светодиодной подсветкой (на пропускание) и веб-камерой. Оба микроскопа имеют видеонасадки, работающие с компьютером по USB-2 порту.

### **Морфоструктурная характеристика высохших капель крови пациентов**

На рисунке 1 представлены снимки высохших капель крови пациентов с различными формами рака.



**Рисунок 1** - Снимки высохших капель крови пациентов: Ф - (рак шейки матки); К - (рак шейки матки); Н - (рак вульвы, 2 степени); Г - (предполагаемый диагноз - рак шейки матки); З – потенциально здоровый человек

Анализ морфоструктуры высохших капель цельной крови пациенток Ф и К с одинаковым заболеванием – рак шейки матки, выявляется схожесть морфоструктурных изменений на окончательном этапе высыхания капли. Эта схожесть проявляется в формировании групп радиальных трещин с ростом по мере высыхания капли в центральную зону и образовании в конечном счете одинакового количества крупных секторов. Определенным нюансом в процессе высыхания капель было формирование в первом случае коацервата белков с эритроцитами в конвекционных ячейках с поэтапным исчезновением, а во втором - вытеснение коацервата белков с эритроцитами в центральную зону с помощью радиальных трещин.

В результате исследования капли крови пациентки Н – рак вульвы 2 стадии имеются отличительные черты в сравнении с предыдущими пациентками. В процессе высыхания капли крови в этом случае происходило образование морщин, которые располагались в центральной зоне капли, а не формирование коацервата белков с эритроцитами в конвекционных ячейках, что возможно обусловлено разной локализацией патологического очага.

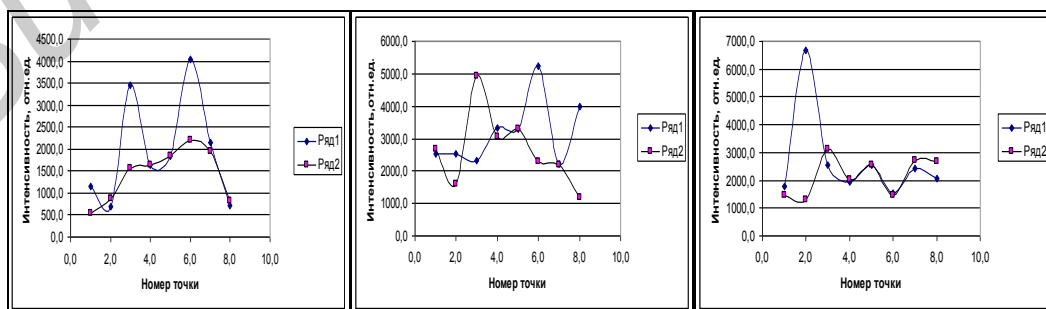
При исследовании капли крови пациентки Г с предполагаемой онкологией отмечено, что растрескивание при дегидратации капли на твердой подложке имеет регулярный характер, радиальные трещины располагаются упорядоченно на приблизительно равном расстоянии и напоминают ромашку, что характерно для структуризации высохших капель крови потенциально здоровых лиц (рис. 1; 3) и не наблюдается при высыхании капель крови больных с диагнозом рак шейки матки. Однако радиальные трещины не соединяются в центральной зоне вследствие образования коацервата белков с эритроцитами.

Наблюдаемая картина морфоструктурной организации при клиновидной дегидратации капли больной Г позволила предположить отсутствие или самую раннюю стадию злокачественного новообразования этой больной. Гистологически подтвержденный диагноз (Карцинома in situ C<sub>in</sub> III степени шейки матки, X<sub>susp. cr.</sub>) совпал с нашим предположением. Учитывая диагноз больной Г, можно говорить о диагностике на доклинической стадии.

Проведенный нами анализ морфоструктуры в процессе изучения динамики ее образования при высыхании капли крови больных выявил практически идентичную картину комплексного процесса структуризации высыхающих капель у обеих пациенток Ф и К, и, более того, соответствовал их абсолютно однотипным диагнозам (Т 3b N1 M0, III стадия), подтвержденным гистологическими срезами. Метод может заявить себя как диагностический.

#### **Исследование локального распределения Са в образцах высохших капель крови**

Нами также исследовано локальное распределение кальция в образцах крови, высохшей на твердой поверхности, методом лазерной атомно-эмиссионной спектроскопии. Использовали лазерный многоканальный атомно-эмиссионный спектрометр LSS-1 (СП ЛОТИС ТИИ, РБ). Лазерное излучение фокусировали на образец с помощью ахроматического конденсора с фокусным расстоянием 100 мм по двум перпендикулярным диаметрам. Размер пятна фокусировки примерно 50 мкм. Пошаговое расстояние - мм. Все эксперименты проводили в атмосфере воздуха при нормальном атмосферном давлении.



**Рисунок 2** - Интенсивность линии Са в атомно-эмиссионных спектрах высушенных капель крови пациентов Ф, К и Г

Распределение кальция по диаметру высушенных капель крови было исследовано во всех образцах. На рисунке 2 представлены результаты распределения этого важного макроэлемента в образцах высушенных капель крови пациенток Ф, К и Г.

Пространственное распределение содержания кальция по диаметру высушенных капель крови обеих больных раком шейки матки (образцы Ф и К) очень схожи, различий практически нет. Наблюдается два пика интенсивности с максимальным содержанием по краям высохшей капли (3000 – 5000 отн. ед.).

У пациентки Г с предполагаемым диагнозом рака шейки матки в некоторых слоях центральной зоны капли отмечено большее содержание кальция, чего не наблюдается в каплях Ф и К. Характерно и то, что и на поверхности, и по толщине слоя обнаруживается только один пик максимальной интенсивности кальция. При этом он находится в краевой зоне капли, что характерно для распределения кальция в образцах крови практически здоровых лиц.

Таким образом, распределение кальция и на поверхности, и в слоях высушенной капли при различной степени выраженности заболевания может заметно различаться, происходит перераспределение этого макроэлемента. Оценка изменения интенсивности его может служить индикатором заболевания.

Настоящее исследование с использованием метода ЛАЭМС показало, что возбуждение сдвоенными лазерными импульсами анализируемой поверхности высохшей капли БЖ является перспективным направлением для полуколичественной оценки распределения не только кальция, но и других эссенциальных элементов по диаметру капли и может быть со временем использовано для поиска маркеров заболеваний.

Результаты таких оценок могли бы служить основой при проведении диагностических исследований, поскольку на начальных стадиях развития болезни общее содержание макроэлементов в БЖ пациентов, как правило, лежит в пределах нормы.

Полученные результаты показывают, что, используя данные морфоструктурного анализа высыхающей капли крови, можно проводить предварительную оценочную диагностику онкозаболеваний, получить подтверждение отсутствия или наличия такой патологии. Учитывая относительную простоту выполнения анализа, не требующего наличия дорогостоящего оборудования и больших затрат времени, методика может найти практическое применение.

#### *Литература*

1. **Рапис, Е.Г.** Образование упорядоченной структуры при высыхании пленки белка. // Письма в ЖТФ. – 1988. – Т. 14. -№ 17. – С. 1560–1564.
2. **Шабалин В.Н., Шатохина С.Н.** Морфология биологических жидкостей в клинической лабораторной диагностике // Клинич. лаб. диагностика. 2002. № 3. С. 25—32.
3. **Краевой С. А., Колтовой Н. А.** Диагностика по капле крови. Кристаллизация биожидкостей // Книга 1. Метод открытой капли (угловая дегидратация) – Москва, 2013 С. 47-49.
4. **Шабалин В.Н., Шатохина С.Н.** Морфология биологических жидкостей человека // М.: Хризостом, 2001. 300 с.